

Recherche d'œnothères riches en acide gamma-linolénique

M. PINA (1), J. GRAILLE (1), P. GRIGNAC (2), A. LACOMBE (2), O. QUENOT (2) et P. GARNIER (3)

Résumé. — L'acide gamma-linolénique (C18:3 (n-6)) est un acide gras essentiel qui provient traditionnellement de l'huile d'Onagre (*O. biennis*). Dans le but de rechercher de nouvelles sources de cet acide, l'huile des graines de 30 espèces d'Onagracées de collection et 10 de populations sauvages des environs de Montpellier (France) a été analysée. *O. grandiflora* est l'espèce de collection dont l'huile est la plus riche avec un taux d'acide gamma-linolénique de 11,6 % ; les huiles de OG3 Maguelonne et OG4 Montpellier, provenant de populations sauvages en contiennent quant à elles 11,4 % et 11,8 %. Ces graines désormais conservées en collection sont étudiées au champ pour la mise au point de nouvelles techniques culturales adaptées.

INTRODUCTION

L'homme est incapable de biosynthétiser l'acide linoléique (C18:2(n-6)), premier terme de la série des acides gras essentiels (A.G.E.) découverts en 1929 par Burr *et al.* [1]. Cet acide gras lui est apporté dans son alimentation par les huiles végétales ; il est normalement désaturé dans l'organisme par la $\Delta 6$ désaturase pour donner l'acide gamma-linolénique (C18:3(n-6)) précurseur des A.G.E. supérieurs : dihomogamma-linolénique (C20:3(n-6)), arachidonique (C20:4(n-6)) et docosapentaénoïque (C22:5(n-6)). Le syndrome de la carence en A.G.E. peut avoir deux origines : l'apport insuffisant dans la ration alimentaire, ou la déficience de la $\Delta 6$ désaturase dont les principales causes sont, notamment, l'hypoinsulinémie, l'hypergluconémie, le stress, l'âge, le tabagisme, l'alcoolisme, le jeûne, et donc la malnutrition. S'il est facile de remédier au premier cas de carence en consommant des huiles végétales riches en A.G.E., le deuxième est beaucoup plus difficile à résoudre car on ne connaît que très peu de sources d'acide gamma-linolénique dont la consommation rétablirait la bonne séquence métabolique des A.G.E. On en trouve dans certains microorganismes [4] et quelques familles de plantes telles les Onagracées, les Borraginacées, les Scrophulariacées et les Saxifragacées [5]. Toutefois c'est principalement à partir de graines d'œnothères [6], notamment *O. biennis* (huile d'onagre) que des quantités importantes d'huile ont pu être extraites et ainsi commercialisées pour des usages cosmétiques, diététiques et médicaux. Cependant les techniques culturales actuellement pratiquées tant en France qu'en Grande-Bretagne sont longues et coûteuses. Dans le but de mettre au point une méthode d'obtention moins onéreuse de graines elles-mêmes plus riches en acide gamma-linolénique que les sources traditionnelles et compte tenu de la grande variabilité du genre *Oenothera*, diverses graines provenant de collection de jardins botaniques et d'espèces sauvages récoltées dans la région de Montpellier ont été analysées.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Origine des graines.

Les graines d'œnothères étudiées proviennent de divers jardins botaniques français et étrangers et, notamment pour une grande part, de la collection du jardin botanique de Montpellier.

Les graines de bourrache (*Borrago officinalis*) et de certaines œnothères, ont été fournies par le Docteur Garnier.

Dans la région de Montpellier, il existe des populations importantes d'œnothères que l'on peut observer sur les dunes du littoral, sur lesquelles elles sont très bien adaptées. Ainsi des graines de populations hybrides sauvages ont été prélevées entre Sète et les Saintes-Maries-de-la-Mer. Leur détermination botanique n'a pas été effectuée et leur dénomination arbitraire est issue de leur provenance. OG1, OG2 et OG3, graines prélevées aux environs de la plage de Maguelonne, sont différenciées par les morphologies différentes des plantes. Les graines de OG4 proviennent d'un plant isolé géant récolté dans la périphérie de Montpellier.

Extraction des huiles.

L'extrait à l'hexane des graines a été effectué, quand les quantités suffisantes étaient disponibles, selon la norme française [7]. Après élimination de l'hexane sous pression réduite d'azote, les huiles obtenues sont conservées sous atmosphère d'azote à 4 °C.

Pour les graines d'œnothères de collection, dont les quantités étaient souvent insuffisantes, nous avons d'abord procédé à un concassage dans un mortier en présence d'hexane, puis à une filtration. Après évaporation de l'hexane, l'huile est immédiatement convertie en esters méthyliques.

Préparation des esters méthyliques.

Les huiles extraites sont transestérifiées en esters méthyliques afin d'être analysées par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire en verre. 200 mg d'huile environ sont pesés dans un ballon de 50 ml. On ajoute 5 ml de méthylate de sodium obtenu en dissolvant 1 g de sodium métal dans 100 ml d'un mélange anhydre

(1) Département Chimie des Corps Gras, I.R.H.O., GERDAT, B.P. 5035, 34032 Montpellier (France).

(2) Chaire de Phytotechnie, Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie, 9, Place Pierre-Viala, 34060 Montpellier (France)

(3) Docteur ès Sciences, Ethnobotanique et Phytomyie, 71, Avenue des Aubépines, 13400 Aubagne (France).

TABLEAU I. — Composition centésimale en acides gras des huiles extraites à partir de graines d'Onagracées de collections botaniques

Espèces	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	γ 18:3 (n-6)	18:3	20:0	20:1
Onagracées									
<i>Oenothera ammophila</i>	6,0	0,2	2,4	10,4	73,0	7,6	—	—	0,4
<i>O. affinis</i>	11,6	0,4	3,2	13,3	67,6	0,7	2,4	0,4	0,4
<i>O. atrovirens</i>	7,3	0,1	1,5	5,5	76,0	9,1	0,2	0,2	—
<i>O. biennis</i>	6,1	0,1	1,6	11,5	71,7	8,3	0,2	0,3	0,2
<i>O. cardiophylla</i>	11,6	0,1	2,2	5,8	80,0	—	0,1	0,1	—
<i>O. drummondii</i>	16,1	0,1	2,8	5,3	71,4	4,1	0,1	0,1	—
<i>O. ersteinensis</i>	6,3	0,2	1,0	7,0	77,2	7,5	0,2	0,3	0,2
<i>O. fallax</i>	6,8	0,2	1,7	7,6	74,2	8,7	0,2	—	—
<i>O. fraseri</i>	10,6	0,8	4,5	12,5	64,2	6,2	0,6	0,4	0,2
<i>O. fruticosa</i>	8,0	0,1	1,4	3,2	77,4	9,4	0,3	0,1	0,1
<i>O. glauca</i>	14,3	0,9	5,2	13,9	62,4	1,5	0,6	0,8	0,4
<i>O. grandiflora</i>	9,8	0,3	1,8	6,4	69,0	11,6	0,8	0,3	—
<i>O. hoelscheri</i>	6,9	0,2	1,6	10,5	71,8	8,4	0,2	0,3	0,1
<i>O. indecora</i>	11,8	0,2	3,5	8,6	74,7	1,0	0,1	0,1	—
<i>O. isleri</i>	9,7	0,3	2,5	10,2	69,1	7,9	0,1	0,2	—
<i>O. lamarkiana</i>	5,6	0,1	1,6	11,2	71,9	9,0	0,2	0,4	—
<i>O. lipsiensis</i>	10,3	0,1	3,3	8,1	71,2	6,7	—	0,2	0,1
<i>O. macrocarpa</i>	7,3	0,2	1,7	12,0	70,0	8,5	0,2	0,1	—
<i>O. missouriensis</i>	5,3	0,1	2,5	10,7	80,8	—	0,1	0,3	0,2
<i>O. nocturna</i>	7,5	0,4	3,2	6,1	78,3	4,2	0,2	0,1	—
<i>O. odorata</i>	12,0	0,6	3,1	8,6	72,5	1,8	0,6	0,6	0,2
<i>O. parviflora</i>	6,6	0,2	1,6	11,2	71,9	7,7	0,3	0,3	0,2
<i>O. pumila</i>	10,1	0,3	3,2	6,9	74,4	4,7	0,3	0,1	—
<i>O. rosea</i>	13,1	0,2	4,2	8,9	72,2	—	1,0	0,2	0,2
<i>O. rubrinervis</i>	7,2	0,1	1,6	10,7	72,3	7,8	0,2	0,1	—
<i>O. stricta</i>	10,4	0,1	2,6	7,1	76,9	2,3	0,3	0,2	0,1
<i>O. tetragona</i>	6,8	0,2	2,9	7,0	76,5	5,8	0,5	0,2	0,1
<i>O. tetraptera</i>	12,0	0,2	2,2	5,9	79,3	—	0,3	0,1	—
<i>O. triloba</i>	7,5	0,4	2,9	5,0	83,8	—	0,2	0,1	0,1
<i>O. versicola</i>	7,4	0,3	2,9	6,3	79,6	2,9	0,3	0,2	0,1
Borraginacées									
<i>Borrigo officinalis</i> (1)	10,3	0,1	7,3	27,8	32,0	16,3	0,6	0,5	0,2

(1) Autres A.G. = 4,9 % dont 3,3 % d'acide érucique (C22:1).

TABLEAU II. — Composition centésimale en acides gras des huiles provenant des populations sauvages d'œnothères de la région de Montpellier

Provenance	Dénomination	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	γ 18:3 (n-6)	18:3	20:0	20:1
— Plage de Carnon	<i>Oenothera</i> Carnon	7,2	0,3	1,4	6,5	76,1	7,9	0,2	0,2	0,1
— Bord de route Sète-Agde	O. Sète	8,4	0,1	2,4	11,2	70,0	7,6	0,3	—	—
— Grande-Motte ville	O. Grande-Motte	7,1	0,2	1,5	5,9	76,3	8,7	—	0,3	—
— Bord de route Grande-Motte au Grau-du-Roi	O. GM à GR	7,0	0,2	1,2	5,9	75,8	9,3	0,3	0,3	—
— Sortie Grau-du-Roi vers Port Camargue	O. G. du R.	7,7	0,1	1,7	8,5	71,6	10,3	0,2	0,1	—
— Chemin vers phare de l'Espiguet	O. Espiguet	7,0	0,2	1,7	7,1	74,7	8,4	0,3	0,3	0,2
— Plage de Maguelonne	OG1 Maguelonne	6,9	0,3	1,6	8,1	74,7	8,0	—	0,3	—
— Plage de Maguelonne	OG2 Maguelonne	7,2	0,2	1,7	7,3	74,5	8,5	0,2	0,3	0,2
— Plage de Maguelonne	OG3 Maguelonne	9,2	0,3	1,6	8,9	67,2	11,8	0,4	0,3	0,2
— Montpellier ville	OG4 Montpellier	6,9	0,1	1,7	12,1	67,5	11,4	0,2	0,1	—

TABLEAU III. — Richesse en acide gamma-linolénique des graines d'œnothères analysées pour leur teneur en huile

Provenance	Dénomination	% Huile dans la graine	% de γ 18:3 dans l'huile	% de γ 18:3 dans la graine
Plage de Maguelonne	OG1 Maguelonne	12,3	8,0	1,0
Plage de Maguelonne	OG2 Maguelonne	11,2	8,5	0,95
Plage de Maguelonne	OG3 Maguelonne	16,1	11,8	1,9
Montpellier ville	OG4 Montpellier	15,6	11,4	1,75

méthanol-benzène 70/30 (v/v) ainsi que 15 mg de phénolphtaléine. On porte 10 minutes à reflux. Par le haut du réfrigérant, sans arrêter l'ébullition on ajoute du méthanol chlorhydrique obtenu par addition de 100 ml de chlorure d'acétyle dans 1 250 ml de méthanol anhydre : l'addition doit être effectuée goutte à goutte et le méthanol refroidi à 0 °C. L'addition du réactif est effectuée jusqu'à disparition de la couleur rose : on ajoute alors un excès de 5 ml et on prolonge l'ébullition encore 10 minutes. Après refroidissement, 20 ml environ d'eau distillée sont ajoutés dans le ballon dont le contenu est transvasé dans une ampoule à décanter de 100 ml. Les esters méthyliques sont extraits 2 fois à l'hexane pour avoir une solution hexanique finale de l'ordre de 1 % (2 extractions avec 10 ml d'hexane) que l'on conserve dans un flacon contenant du sulfate de soude. 1 µl de cette solution est alors injecté dans le chromatographe.

Conditions chromatographiques :

Appareillage :

- chromatographe Girdel G300,
- intégrateur Enica 10 Delsi.

Caractéristiques de la colonne (préparation selon la méthode statique de Grob *et al.* [8]) :

- phase stationnaire : carbowax 20 M,
- longueur : 40 m,
- diamètre interne : 0,28 mm,
- épaisseur du film : 0,1 µm.

Caractéristiques de l'analyse :

- gaz vecteur : hélium, pression : 1B, débit colonne : 2 ml/min ; fuite : 60 ml/min ;
- température du four : 185 °C ;
- température de l'injecteur : 250 °C ;
- température du détecteur (ionisation de flamme) : 250 °C.

L'identification a été effectuée sur la base des longueurs de chaînes équivalentes avec des esters méthyliques d'acides gras standards.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Analyse des huiles d'œnothères provenant de graines de collection.

Les huiles des graines provenant de 30 espèces d'œnothères différentes ont été analysées : leurs compositions centésimales en acides gras sont consignées dans le tableau I. Si l'on prend comme référence, avec un taux d'acide gamma-linolénique de 8,3 %, l'espèce *O. biennis*, on constate que cette dernière n'est pas l'espèce qui fournit l'huile la plus riche en cet acide. En effet *O. grandiflora*, avec un taux de 11,6 % d'acide gamma-linolénique dans l'huile, est l'espèce étudiée la mieux fournie. De plus, 3 autres espèces d'œnothères ont des huiles dont le taux en acide gamma-linolénique est supérieur à 9 % : *O. atroviensis*, *O. fruticosa*, *O. lamarkiana*. Les huiles de *O. fallax* (8,70 %), *O. hoelsheri* (8,1 %), *O. macrocarpa* (8,5 %), *O. parviflora* (7,7 %) et *O. rubrinervis* ont, quant à elles, un taux d'acide gamma-linolénique compris entre 7,7 % et 8,7 % comparable à celui de l'huile d'onagre bisannuelle. Il est à remarquer par contre que le taux de cet acide est très faible dans la composition des huiles de graines de

O. indecona (1 %) et *O. affinis* (0,7 %). Certaines graines d'œnothères sont même dépourvues d'acide gamma-linolénique. C'est le cas pour *O. cardiophylla*, *O. missouriensis*, *O. tetraptera* et *O. triloba*.

Il faut signaler enfin qu'il est vraiment regrettable de ne pas avoir obtenu des quantités suffisantes de graines pour permettre un dosage correct de la teneur en huile des graines car, pour faire une étude comparative complète de la richesse de toutes ces espèces en acide gamma-linolénique, il faudrait pouvoir ramener le pourcentage de cet acide non pas à sa seule proportion dans l'huile, mais aussi à sa proportion dans la graine.

L'huile extraite des graines de l'espèce de Boraginacées étudiée, *Borago officinalis*, présente un très fort taux en acide gamma-linolénique (16,3 %), bien supérieur à la meilleure espèce d'œnothère, mais présente également l'inconvénient d'avoir un pourcentage non négligeable en acide érucique (3,3 %), qui est jugé indésirable par un certain nombre de chercheurs.

Analyse des huiles extraites des populations sauvages de la région de Montpellier.

Dix lots de graines provenant de populations sauvages du littoral languedocien ont été analysés. Les résultats sont consignés dans le tableau II. Pour les espèces OG1, OG2, OG3 et OG4, des prélèvements plus importants ont permis la détermination de la teneur en huile des graines.

L'étude comparative de la compétition en acides gras de ces différentes huiles fait apparaître une relative ressemblance entre elles. La plupart ont un taux d'acide gamma-linolénique compris entre 8 et 10 %, ce qui est très acceptable. Toutefois, les huiles extraites des populations provenant de OG3 (Maguelonne) et OG4 (Montpellier) présentent respectivement des taux en acide gamma-linolénique de 11,8 et 11,4 %, soit sensiblement supérieurs à ceux des espèces *O. biennis* et *O. lamarkiana* généralement prises comme références. Les taux d'acide gamma-linolénique des deux huiles d'OG3 et OG4 sont comparables à celui de l'huile de *O. grandiflora* (11,6 %) qui présente l'huile la plus riche parmi les espèces de collection étudiées jusqu'ici dans notre laboratoire.

Ramené au pourcentage dans les graines, le taux d'acide gamma-linolénique dans les graines d'OG4 Montpellier est de l'ordre de 1,75 %, et celui d'OG3 Maguelonne proche de 2 % (Tabl. III).

CONCLUSION

A partir de ces derniers résultats particulièrement encourageants, il a semblé intéressant d'étudier les possibilités agricoles de certaines de ces populations sauvages et de constituer une collection. En possession désormais d'une riche variété de graines nous testons, en collaboration avec nos collègues phytotechniciens, différentes techniques culturales dans le but de savoir si cette culture est techniquement possible et économiquement rentable, le point capital étant de pouvoir connaître le rendement à l'hectare en graines, en huile et en acide gamma-linolénique [9].

Comme objectif plus lointain, si ces études s'avéraient positives, nous avons pensé que l'introduction de cette plante en zone tropicale serait un moyen de contribuer à lutter contre les effets de la malnutrition.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] BURR G. O. and BURR M. M. (1929). — A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet. *J. Biol. Chem.*, **82**, p. 345-367.
- [2] HASSAM A. G., SINCLAIR A. J. and CRAWFORD M. A. (1975). — The incorporation of orally fed radioactive γ -linolenic acid and linoleic acid into the liver and brain lipids of suckling rats. *Lipids*, **7**, p. 417-420.
- [3] WILLIAMS J. (1980). — Progrès récents de la recherche sur les acides gras essentiels. *Oléagineux*, **35**, N° 10, p. 457-479.
- [4] SHAW R. (1965). — The occurrence of γ -linolenic acid in fungi. *Biochim. Biophys. Acta*, **98**, p. 230-237.
- [5] WOLF R. B., KLEIMAN R. and ENGLAND R. E. (1983). — New sources of γ -linolenic acids. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **60**, p. 1858-1860.
- [6] HUDSON B. J. F. (1984). — Evening Primrose (*Oenothera* spp.) oil and seed. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **61**, p. 540-543.
- [7] AFNOR (1981). *Corps gras, Graines oléagineuses, Produits dérivés : Détermination de l'extrait à l'hexane*. NF V03-905 (Déc. 1973), p. 224-230.
- [8] GROS K., GROB G. and GROB K., jr. (1977). — The baryum carbonate procedure for the preparation of glass capillary columns ; further informations and developments. *Chromatographia*, **10**, p. 181-187.
- [9] LACOMBE A., QUENOT O., GRIGNAC P., GRAILLE J., PINA M. et GRANIER P. — Tentative de production d'acide gamma-linolénique par la culture de l'onagre (genre *Oenothera*). *Oléagineux* (sous-presse).

SUMMARY

Research on *Oenothera* rich in gamma-linolenic acid.

M. PINA, J. GRAILLE, P. GRIGNAC, A. LACOMBE, O. QUENOT and P. GARNIER, *Oléagineux*, 1984, **39**, No. 12, p. 593-596.

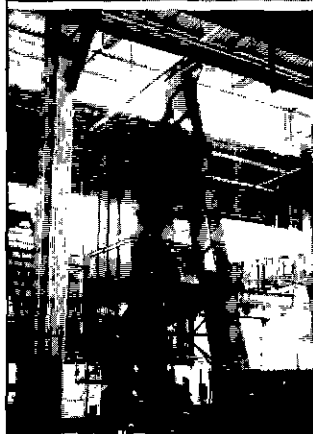
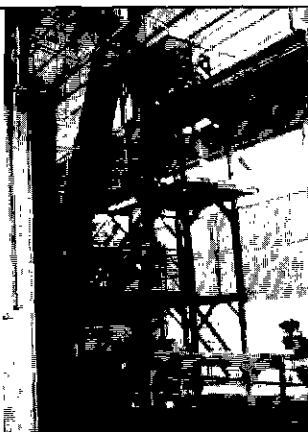
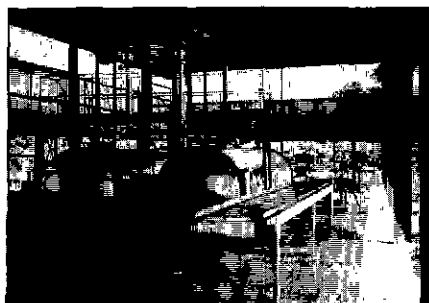
Gamma-linolenic (C18:3 (n-6)) is an essential fatty acid usually obtained from onager oil (*O. biennis*). To seek new sources of this acid, the seed oil of 30 collection species of Onagraceae and 10 from wild populations in the Montpellier region (France) were analysed. *O. grandiflora* is the collection species with the richest oil, the gamma-linolenic acid content being 11.6 p. 100 ; the oils of OG3 Maguelonne and OG4 Montpellier from wild populations contain 11.4 and 11.8 p. 100. These seeds, henceforth to be kept in a collection, are studied in the field with a view to working out appropriate new methods of cultivation.

RESUMEN

Busca de enoteras ricas en ácido gamma-linolénico.

M. PINA, J. GRAILLE, P. GRIGNAC, A. LACOMBE, O. QUENOT y P. GARNIER, *Oléagineux*, 1984, **39**, N° 12, p. 593-596.

El ácido gamma-linolénico (C18:3 n-6) es un ácido graso esencial que proviene tradicionalmente del aceite de onagra (*O. biennis*). A fin de procurar nuevas fuentes de este ácido, se analizó el aceite de las semillas de 30 especies silvestres de onagrariáceas de colección y de 10 poblaciones silvestres de los alrededores de Montpellier (Francia). *O. grandiflora* resulta ser la especie de colección cuyo aceite tiene el contenido de ácido gamma-linolénico más alto, con 11,6 % ; el de los aceites de OG3 Maguelonne y OG4 Montpellier, procedentes de poblaciones silvestres, es de 11,4 % y 11,8 % respectivamente. Estas semillas, que en adelante se conservan en colección, se estudian en el campo para el desarrollo de nuevas prácticas de manejo adecuadas.



Nous sommes constructeurs de
matériels modernes et performants
pour

HUILERIES DE PALME
TOUTES CAPACITÉS

Vous avez des Projets — Consultez-nous
60 années d'expérience sur les oléagineux



Société Nouvelle des Etablissements A. OLIER

S.A. AU CAPITAL DE 2.035 000 F

Siège Social et Usine - 12, rue Amadéo — 63000 CLERMONT-FERRAND (FRANCE)

Tél (73) 36 28 64

Télex : SNOLIER 393-257